

ASOCIACIÓN ENTRE CINCO GENES CANDIDATOS Y PRODUCCIÓN DE LECHE EN LA RAZA CRIOLLA SAAVEDREÑA*

ASSOCIATION BETWEEN FIVE CANDIDATE GENES AND MILK YIELD IN THE SAAVEDREÑA CREOLE CATTLE BREED*

Ripoli, M.V.^{1**}, P.M. Corva², A. Antonini¹, J.C. De Luca¹, F. Rojas³, F.N. Dulout¹ y G. Giovambattista¹

¹Centro de Investigaciones en Genética Básica y Aplicada (CIGEBA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata (UNLP). 60 y 118 s/nº, C.C 296, AVW1900. La Plata. Argentina.

^{**}Correspondencia. E-mail: mvripoli@fcv.unlp.edu.ar

²Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. CC 276. 7620 Balcarce. Argentina.

³Centro de Investigación Agrícola Tropical (CIAT). Av. Ejército Nacional 131. Casilla 247. Santa Cruz. Bolivia.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Bovino Criollo. Marcador genético. Asociación.

ADDITIONAL KEYWORDS

Creole cattle. Molecular markers. Association.

RESUMEN

Utilizando PCR-RFLP y AS-PCR se caracterizaron los polimorfismos de los genes candidatos α_{s1} -caseína, κ -caseína, β -lactoglobulina, prolactina y hormona de crecimiento en 146 muestras de sangre de vacas Criolla Saavedreña de la Estación Experimental de Saavedra (Bolivia) seleccionadas para producción lechera estudiando la asociación de dichos genes con la producción de leche en vacas de primera lactancia.

El único *locus* que evidenció diferencias significativas en producción de leche entre los tres posibles genotipos fue CAS κ , siendo el genotipo AA el que se encontró asociado con una mayor producción de leche ($F= 5,75$; $p= 0,004$). Este genotipo produjo 20 p.100 (150 litros) más que los genotipos BB y AB.

SUMMARY

Using PCR-RFLP and AS-PCR the candidate genes α_{s1} -casein, κ -casein, β -lactoglobulin, prolactin and growth hormone were characterized in 146 Saavedreño Creole cows belonging to the Saavedra Experimental Station (Bolivia) and the association between these genes and milk yield in first lactation cows was analyzed.

Only κ -casein *locus* exhibit significant differences between milk yield of its different genotypes, being the genotype AA the most productive ($F= 5,75$; $p= 0,004$). This genotype produced 20 percent (150 l) more than BB and AB genotypes.

INTRODUCCIÓN

En razas europeas, altamente seleccionadas y adaptadas a climas templado-fríos se ha evidenciado un efecto significativo de los genes correspon-

*El presente trabajo fue subsidiado por la Agencia de Cooperación Internacional del Japón, la Universidad Nacional de La Plata y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

dientes a las proteínas de la leche y diferentes hormonas, que participan en el estímulo de la lactancia, sobre caracteres de producción lechera (Fries y Ruvinsky, 1999). Este tipo de asociaciones no han sido estudiadas en América Latina para razas bovinas Criollas seleccionadas para producción lechera en climas tropicales o subtropicales.

El presente trabajo trata de caracterizar los polimorfismos de los genes *CAS κ* , *CAS α_{s1}* , *LG β* , *GH* y *PRL* en la raza Criolla Saavedreña (CSaa) y estudiar, dada su función biológica, su posible asociación con la producción láctea en vacas de primera lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

BOVINO CRIOLLO SAAVEDREÑO (CSAA)

En la década de 1970 se estableció la estación Experimental de Saavedra (Santa Cruz de la Sierra, Bolivia), con bovinos Criollos de Bolivia, Brasil, Nicaragua y Cuba para seleccionar ganado Bovino Criollo lechero.

DATOS REGISTRADOS

Se seleccionaron 146 vacas de 3 a 4 años de edad en su primer parto pertenecientes a seis familias de medio hermanas paternas (16 a 44 hijas por toro). Se registró fecha, estación y edad al primer parto y producción de leche y duración de la primera lactación. Se analizaron los datos genealógicos de 312 individuos.

EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO

El ADN se extrajo con DNAZOL® (Invitrogene, Carlsbad, CA, USA) a partir de las muestras de sangre. Los *loci* de κ -caseína (*CAS κ*), *Prolactina*

(*PRL*), β -lactoglobulina (β -LG) y *Hormona de crecimiento* (GH) se tipificaron mediante la técnica de PCR-RFLP de acuerdo a los protocolos descritos por Agrawala *et al.*, (1992); Lewin *et al.*, (1992); Medrano y Aguilar Córdoba (1990) y Yao *et al.* (1996), respectivamente. El *locus* α_{s1} -caseína (*CAS α*) se tipificó mediante la técnica de AS-PCR descrita por David y Deutch (1992).

ASOCIACIÓN ENTRE LA PRODUCCIÓN LECHE-RA Y LOS MARCADORES GENÉTICOS

Primero se corrigieron los valores reales de lactancia utilizando metodologías de modelos mixtos (BLUP, modelo animal) incluyendo los efectos fijos de año y estación de parición, y edad en días al momento del parto como covariable. Como efecto aleatorio se incluyó el valor genético de cada hembra. Se usaron los programas MDFREML (Boldman *et al.*, 1995).

Los valores corregidos de producción de leche se analizaron con el módulo GLM de SAS (1998). La fuente de variación incluida en el modelo fue el genotipo para los genes candidatos bajo estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias alélicas y genotípicas para cada *locus* se presentan en la **tabla I**. Los alelos *CAS κ* B, *CAS α_{s1}* C, *LG β* A, GH B y *PRL* B se detectaron en baja frecuencia, por lo que los genotipos *CAS α_{s1}* CC, *LG β* AA y *PRL* BB estuvieron escasamente representados. Estos resultados coinciden con los datos reportados para estos *loci* en tres de las razas Criollas (Criolla

Tabla I. Frecuencias génicas y genotípicas de los loci $CAS\kappa$, $CAS\alpha_{s1}$, $LG\beta$, PRL y GH. (Allele and genotype frequencies of loci $CAS\kappa$, $CAS\alpha_{s1}$, $LG\beta$, PRL y GH).

	Frecuencias					
	génicas		genotípicas			p ¹
CAS _κ	A	B	AA	AB	BB	
	0,54	0,46	0,25	0,58	0,17	0,051
CAS _{α_{s1}}	B	C	BB	BC	CC	
	0,85	0,15	0,72	0,26	0,02	0,740
LGβ	A	B	AA	AB	BB	
	0,14	0,86	0,056	0,169	0,775	0,011
PRL	b	B	bb	Bb	BB	
	0,822	0,178	0,667	0,31	0,023	0,765
GH	A	B	AA	AB	BB	
	0,77	0,23	0,63	0,27	0,10	0,015

¹Estimado mediante la prueba análoga de Fischer.

Yacumeña, Criolla Chaqueña, Caracú lechero) que dieron origen al CSaa (Lirón *et al.*, 2002). Por ello, las frecuencias génicas observadas podrían ser consecuencia de su origen y no de la selección para producción lechera de los últimos 30 años. Sólo los loci $LG\beta$ y GH evidenciaron desvíos significativos (**tabla I**) del equilibrio H-W.

En la **tabla II** se detallan los valores de producción media para cada uno de los genotipos correspondientes a los loci analizados. Cuando se consideró el efecto del genotipo sobre el rendimiento sólo se detectaron diferencias significativas para el locus de $CAS\kappa$ ($F=5,75$; $p=0,004$), en el que genotipo AA produjo de 150 litros de leche más con respecto a los genotipos AB y BB, lo que implica una diferencia del 20 p.100. Es de destacar el tipo de acción génica detectada para este locus. La superioridad del alelo A en producción de leche sólo se evidenció en estado

homocigoto, sugiriendo que el alelo para mayor producción es recesivo.

En contraste con lo observado en el CSaa, en la mayoría de los estudios realizados en razas europeas, el genotipo BB se ha correlacionado con una mayor producción de leche. Sin embargo, Gonyon *et al.*, (1987) encontraron una diferencia significativa a favor de la variante A en vacas Holstein, en las cuales el genotipo AA produjo 90 kg más de leche que las vacas BB, observando la misma relación de dominancia que en el caso del CSaa.

Hasta el momento, no se han reportado trabajos acerca de la asociación entre el sitio polimórfico *Rsa* I del locus PRL y el rendimiento lechero. En los bovinos CSaa no se observaron diferencias significativas entre los ge-

Tabla II. Producción promedio en litros de leche para los genotipos de los loci $CAS\kappa$, $CAS\alpha_{s1}$, $LG\beta$, PRL y GH. (Average milk yield (litres) of different genotypes at loci $CAS\kappa$, $CAS\alpha_{s1}$, $LG\beta$, PRL y GH.).

Marcador	Genotipo	Litros de leche
$CAS\kappa$	AA	915,736
	AB	714,817
	BB	761,148
$CAS\alpha_{s1}$	B/B	781,365
	B/C	783,802
$LG\beta$	A/B	757,430
	B/B	783,468
PRL	b/b	774,574
	B/b	820,830
GH	A/A	799,288
	A/B	796,830
	B/B	753,920

Los genotipos $CAS\alpha_{s1}$ CC, $LG\beta$ AA y PRL BB no se incluyeron en la tabla por estar representados por 5 o menos animales.

notipos bb y Bb de *PRL* con respecto al rendimiento lechero. Sin embargo, dada la diferencia del 6 p.100 entre dichos genotipos, podría hipotetizarse que si el efecto fuera aditivo, podría haberse detectado una mayor diferencia en caso de haber contado con más individuos de genotipo BB.

Con respecto a los *loci* CAS α_{s1} , LG β y GH, diversos autores han encontrado asociaciones entre dichos ge-

nes y producción lechera en razas europeas (Fries y Ruvinsky, 1999; Yao *et al.*, 1996). Sin embargo, en CSaa no se detectaron diferencias significativas en la producción de leche para los distintos genotipos de dichos *loci*.

Los resultados obtenidos permiten realizar una primera aproximación para determinar la influencia de los *loci* seleccionados sobre la producción en litros de leche.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrawala, P.L., V.A. Wagner and Geldermann. 1992. Sex determination and milk protein genotyping of preimplantation stage bovine embryos using multiplex PCR. *Theriogenology*, 38: 969-978.
- Boldman, K.G., L.A. Kriese, L.D. Van Vleck, C.P. Van Tassell and S.D. Kachman. 1995. A Manual for Use of MTDFREML. A Set of Programs To Obtain Estimates of Variances and Covariances. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service.
- Cowan, C.M., M.R. Dentine, R.L. Ax and L.A. Schuler. 1990. Structural variation around prolactin gene linked to quantitative traits in an elite Holstein sire family. *Theor. Appl. Genet.*, 79: 577-582.
- David, V.A. and A.H. Deutch. 1992. Detection of α_{s1} -casein genomic variants using the allele-specific polymerase chain reaction. *Anim. Genet.*, 23: 425-429.
- Fries, R. and A. Ruvinsky. 1999. The Genetics of Cattle. CAB International, UK.
- Gonyon, D.S., R.E. Mather, H.C. Hines, G.F.W. Haenlein, C.W. Arave and S.N. Gaunt. 1987. Associations of bovine blood and milk polymorphisms with lactation traits: Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 70: 2585- 2598.
- Lewin, H.A., K. Schmitt, R. Hubert, M.J.T. Van Eijk and N. Arnheim. 1992. Close linkage between bovine prolactin and BoLA-DRB3 genes: Genetics mapping in cattle by single sperm typing. *Genomics*, 13: 44-48.
- Lirón, J.P., M.V. Ripoli, L. Cancela, J.C. De Luca, F.N. Dulout and G. Giovambattista. 2000. Genetic characterization of creole cattle from Argentina, Bolivia and Uruguay. Proceeding of the 27th Conference on Animal Genetics. Pág. 64. Minnesota, USA.
- Medrano, J.F. and E. Aguilar-Cordoba. 1990. Polymerase chain reaction amplification of bovine β -lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis. *Biotechnology*, 1: 73-77.
- SAS. 1998. OnlineDoc (TM). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Yao, J., S.E. Aggrey, D. Zadworny, J.F. Hayes and U. Kuhnlein. 1996. Sequence variations in the bovine growth hormone gene characterized by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. *Genetics*, 144: 1809-1816.

Recibido: 20-11-01. Aceptado: 26-11-02.

Archivos de zootecnia vol. 52, núm. 197, p. 92.